

Apoptoza jako mechanizm ochronny dla patogenów i ich żywicieli*

Katarzyna Donskow-Schmelter i Maria Doligalska

Zakład Parazytologii, Instytut Zoologii, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski, ul. Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa

Adres do korespondencji: Katarzyna Donskow E-mail: zuzia@biol.uw.edu.pl

ABSTRACT. APOPTOSIS, A PROTECTIVE MECHANISM FOR PATHOGENS AND THEIR HOSTS. In this review we summarize the great amount of recent information on the apoptosis in aspects of the host-parasite interaction. Although apoptosis is a form of programmed cell death which plays a pivotal role in normal tissue development a plethora of pathogens including parasitic protista and helminths are able to modulate host apoptosis pathways to their own advantage. Here in we present and discuss new research data and results describing the phenomenon as a process have been controlled by gene expression, biochemical reactions and receptor-ligand interactions at the cell membrane surface. Section 1 describes apoptosis as ongoing process in normal tissue development. Section 2 analyzes the role of apoptosis in outcome of infection and pathogenesis of several disorders evoked by viruses and bacteria. The cellular mechanisms of cell death during infection with unicellular parasites such as *Leishmania* sp. and *Plasmodium* sp. are described in Section 3. In the next paragraph the potency of parasitic protista and helminths for modulation host apoptosis pathways to their own advantage is discussed. The involvement of apoptosis in immunoregulation of the host immune function was proposed as a one of possible mechanism in creation of the host-parasite relationship. The molecular and cellular mechanisms of parasite-induced immune response *via* apoptosis pathways are discussed. We conclude that novel strategies for the management of the host-parasite relationships need to be explained into the mechanisms by which parasites induced apoptosis in contribution to the activity of immune system of the host.

Key words: apoptosis, immunosuppression, infection, parasites.

Przyczyny różnorodnego doboru gatunków kształtujących układ pasożyt-żywicieli w królestwie zwierząt są dalekie od wyjaśnienia. Wydaje się, że o sukcesie ewolucyjnym pasożytów umożliwiającym im zasiedlenie tkanek żywiciela decydowały bardzo powszechne mechanizmy fizjologiczne, do których należy także apoptoza. Z punktu widzenia strategii oddziaływań pasożyta i żywiciela oraz zakładając ich pierwotny antagonistyczny charakter, w miarę utrwalania się związku, oba gatunki w drodze kompromisu immunologicznego wypracowały coraz więcej cech swoistości. W układach, w których pasożyt nie indukuje zbyt silnych reakcji obronnych żywiciela lub kontroluje ich przebieg obserwowana jest słaba chorobotwórczość gatunku pasożytniczego. Związki młodsze ewolucyjnie lub całkiem nowe, jak np. inwazja *Toxocara canis* u człowieka, są przyczyną wielu schorzeń i długo

utrzymujących się dysfunkcji. Kontrakcją dla obronnej odpowiedzi układu odpornościowego są buforujące lub niwelujące jej skutki oddziaływania pasożyta na różnych poziomach reakcji fizjologicznych żywiciela. Zmieniając kierunek reakcji obronnych lub hamując ich przebieg pasożyty mogą wymykać się spod kontroli układu odpornościowego. Mechanizm tego zjawiska nie jest wyjaśniony [1]. Dokładna znajomość apoptozy jest ważna dla zrozumienia strategii przetrwania, regulacji i kontrolowania reakcji żywiciela przez pasożyty. W niniejszej pracy dyskutujemy istotność apoptozy w aspekcie odpowiedzi immunologicznej żywiciela, jej mechanizm i konsekwencje dla przebiegu zarażenia.

Organizmy wielokomórkowe są stale narażone na inwazje różnych pasożytów. Niektóre z nich są szybko eliminowane, inne natomiast wywołują zmiany doprowadzające do uszkodzenia tkanek.

* Praca wykonana w ramach projektu KBN 3P04C 087 24

Nasilenie odpowiedzi układu odpornościowego zmienia się w długotrwałych inwazjach, gdyż pasożyty eksponują odmienne antygeny w różnych fazach swojego cyklu rozwojowego. Po indukcji stanu zapalnego reakcje układu nerwowego, hormonalnego i odpornościowego zazwyczaj przywracają stan równowagi fizjologicznej. Odbywa się to między innymi w procesie stopniowego eliminowania komórek, w tym klonów limfocytów rozpoznających antygeny patogenów. Apoptoza, jako pierwotny mechanizm, przyczynia się do przywrócenia stanu równowagi fizjologicznej. Obok proliferacji, różnicowania i dojrzewania komórek ustala się ich liczba i rodzaj z ekspresją receptorów właściwych dla danej reakcji układu odpornościowego [2]. Bez naruszenia integralności tkanek i wzbudzenia stanu zapalnego eliminowane są komórki nieprawidłowe, uszkodzone, zainfekowane lub obciążone mutacjami, dzięki czemu możliwe jest prawidłowe funkcjonowanie układu odpornościowego [3, 4].

Najdokładniej poznano apoptozę subpopulacji limfocytów T. Zidentyfikowano dwa mechanizmy: bierny i czynny (aktywny). W mechanizmie biernym aktywowane limfocyty T obumierają z powodu podprogowych stężeń cytokin, jak np. IL-2 istotnej dla ich żywotności [5]. Mechanizm aktywny (ang.: AICD, activation induced cell death) indukuje śmierć limfocytów T, które spełniły już swoją funkcję i powinny być wyeliminowane ze środowiska reakcji odpornościowej [6].

Apoptoza to proces śmierci komórki podlegający regulacji i charakteryzujący się określonymi zmianami morfologicznymi i biochemicznymi. Przeniesienie sygnału apoptozy w komórce zależy od wewnątrzkomórkowego adenozynotrójfosforanu, ATP; w komórce wymagany jest odpowiedni poziom energetyczny i potencjał utleniająco-redukujący, niezbędne do podtrzymania aktywności enzymów. Zasoby energetyczne decydują o przystąpieniu komórki do apoptozy, a niedobór energii może być bezpośrednią przyczyną śmierci. Na skutek zaburzenia różnych reakcji fizjologicznych, np. pod wpływem toksyn, obniżenie poziomu ATP wywołuje nekrozę komórki, doprowadzając do reakcji zapalnej [7]. Najważniejszą cechą apoptozy, odróżniającą ją od nekrozy, jest brak stanu zapalnego, gdyż rozpadająca się komórka jest fagocytowana przez makrofagi.

Apoptoza może być wzbudzana po odebraniu sygnału spoza komórki przez receptory obecne w błonie komórkowej, lub z jej wnętrza. Dotychczas zidentyfikowano różne czynniki, które wzbudzają

apoptozę komórek. Do induktorów apoptozy należą: czynnik martwicy nowotworów TNF (ang.: tumor necrosis factor), czynnik supresjonujący nowotworzenie – białko p53, szok termiczny, promieniowanie jonizujące, a także transformujący czynnik wzrostu TGF- β (ang.: transforming growth factor), neurotransmitery, glikokortykosteroidy, mitogeny takie jak LPS (ang.: lipopolysaccharide) i PHA (ang.: phytohemagglutinin), autoantygeny oraz toksyny bakteryjne. Inhibitorami apoptozy są niektóre interleukiny (IL-): IL-3, IL-6, GM-CSF (ang.: granulocyte macrophage-colony stimulating factor), G-CSF (ang.: granulocyte-colony stimulating factor), ligand CD40, cynk, estrogeny, androgeny i onkogeny [8]. Niektóre z tych czynników, jak np. hormony, wykazują pro- lub antyapoptotyczną aktywność zależną od gradientu stężenia.

Sygnały zewnętrzne odbierane są przez receptory obecne w błonie komórkowej. Receptory te należą do nadrodziny TNF, która obejmuje 32 receptory i 19 ligandów, m. in: TNFR1 dla TNF- α , Apo-1/Fas (CD95) dla cząsteczki Fas-L, NGFR dla NGF- α , oraz grupa receptorów TRAI na komórkach nowotworowych [9]. Receptory cytoplazmatyczne z rodziny TNFR wykazują homologię funkcjonalną, która wynika z obecności specyficznej sekwencji aminokwasowej zwanej domeną śmierci – DD (ang.: death domain). Ligandy tych receptorów uruchamiają kaskadę reakcji aktywujących prokaspazy inicjujące – 8 lub 10 [10].

W szlaku indukcji wewnętrznej apoptoza rozpoczyna się po uszkodzeniu DNA np. pod wpływem promieniowania UV lub gamma, nieprawidłowego stężenia czynników wzrostowych oraz pod wpływem stresu oksydacyjnego [11]. Sygnały te powodują zaburzenia potencjału błonowego mitochondriów i szereg zmian prowadzących do otwierania kanałów w mitochondrium – MPTP (ang.: mitochondrial permeability transition pore). Przez utworzone megakanały napływa woda; pęcznieje macierz mitochondrialna, a na skutek przerwania błony zewnętrznej cytochrom c przedostaje się do cytoplazmy. Cytochrom c wiąże się z monomeryczną formą czynnika Apaf-1 (ang.: apoptotic protease activating factor-1), który przy udziale dATP zmienia konformację i przyłącza prokaspazę-9 tworząc kompleks zwany apoptosomem [12]. Do cytosolu wydostają się także inne apoptogenne białka mitochondrialne, które indukują kaspazy: białko AIF (ang.: apoptosis inducing factor) oraz białko Smac/DIABLO. Białko Smac/DIABLO inaktywuje białka hamujące apoptozę, IAP (ang.: inhibitor of apoptosis) i dodatkowo

wiąże się z kaspazami [13].

W komórkach ssaków istnieje stały poziom białek anty- i proapoptotycznych, których progowe stężenia utrzymują stan równowagi fizjologicznej. Na pewnych etapach apoptoza i cykl komórkowy mają wspólne mechanizmy regulacji. W komórkach z nieuszkodzonym genomem decyzja o zahamowaniu cyklu komórkowego zapada w tzw. punktach kontrolnych cyklu w fazie G1 oraz w fazie G2 [14].

Apoptozę cechuje określona sekwencja zmian biochemicznych i morfologicznych. Dotyczą one wielkości i kształtu komórki; w wyniku utraty wody i elektrolitów zmniejsza się jej objętość, cytoplazma ulega kondensacji, a błona komórkowa uwypukla się. Najistotniejsze zmiany zachodzą w jądrze komórkowym. Obkurczaniu się jądra towarzyszy zagęszczanie chromatyny poprzedzające degradację DNA; początkowo na duże fragmenty ok. 50.000-300.000 par zasad, a następnie na oligonukleosomy o długości około 180-200 par zasad. Zmiany przepuszczalności błony komórkowej wywołują przemieszczanie się cząsteczek fosfatydyloseryny z wewnętrznej na zewnętrzną warstwę błony komórkowej. Zmiany konformacyjne w błonie komórkowej aktywują sąsiadujące makrofagi, które fagocytują ciała apoptotyczne pojawiające się po rozpadzie komórki [15]. Uważa się, że podczas fagocytozy makrofagi ulegają deaktywacji oraz wykazują wzrost ekspresji receptorów i produkcji czynników hamujących stan zapalny. Wśród nich wymieniane są prostaglandyna E2 (PGE2, ang: prostaglandin E2) i TGF- β oraz czynnik PAF (ang.: platelet-activating factor). Monocyty po sfagocytowaniu ciałek apoptotycznych wydzielają IL-10, która hamuje reakcję zapalną i pobudza limfocyty regulatorowe. Jednocześnie obniża się sekrecja cytokin prozapalnych; TNF- α , IL-1 i IL-12, a hamowanie reakcji zapalnej spełnia ważną rolę w procesie regulacji odpowiedzi układu odpornościowego [16, 17].

W czasie apoptotycznej śmierci komórek dochodzi do ekspresji genów i produkcji białek, które aktywują wiele procesów enzymatycznych. W jądrowym DNA indukowane są „geny śmierci”, do których należą geny kodujące białka proapoptotyczne (Bax, Bad, Bak) i antyapoptotyczne (Bcl-2, Bcl-x), należące do rodziny Bcl-2 (ang.: B-cell leukemia/lymphoma-2). W przekazaniu sygnału śmierci do jądra uczestniczą proteazy zlokalizowane w błonie mitochondrialnej. Inne białka odpowiedzialne za realizację nieodwracalnej fazy wykonawczej apoptozy, to proteazy cysteinowe kaspaz (ang.: caspase-cysteine aspartic acid specific enzymes) [18]. Wy-

stępują one w cytoplazmie w postaci proenzymów, które w formie aktywnej kaskadowo degradują białka strukturalne i enzymatyczne. Głównymi substratami kaspaz są np. białka regulujące syntezę DNA. Kaspazy degradując aktywne, przyczyniają się do zmian morfologicznych komórek. Dotychczas poznano 14 kaspaz. Kaspazy 1, 4, 5, 11 i 12 są związane z proteolityczną modyfikacją cytokin prozapalnych, a ich rola w przebiegu apoptozy jest kwestionowana. Pozostałe kaspazy dzieli się na inicjujące: kaspaza 2, 8, 9, 10 i 12 oraz efektorowe: kaspaza 3, 6 i 7. Najważniejszą funkcję przypisuje się kaspazie 9, która wraz z czynnikiem 1 aktywującym kaspazy Apaf-1, wchodzi w skład kompleksu zwanego apoptosomem. Poprzez dimeryzację prokaspaza 9 ulega aktywacji i inicjuje kaskadę kaspaz efektorowych, doprowadzającą do apoptozy komórki [19]. Najnowsze badania dowodzą, iż kaspazy znajdują się w cytosolu nie tylko przy błonie komórkowej i w pobliżu mitochondriów, ale również w siateczce śródplazmatycznej. Uszkodzenie siateczki śródplazmatycznej prowadzi do uruchomienia kaspazy 12, nieaktywnej w dwóch poprzednich szlakach i kieruje komórkę na drogę apoptozy [20].

Apoptoza w zakażeniach

Organizmy chorobotwórcze, takie jak wirusy, bakterie i pasożyty, mogą zarówno indukować jak i hamować apoptozę. Wirusy dysponują sprawnymi mechanizmami dostosowującymi cykl komórkowy żywiciela do własnego. W pierwszym etapie zakażenia, powstrzymując śmierć komórki zachowują środowisko do własnej replikacji. Po namnożeniu się wirusy wzbudzają apoptozę, co umożliwi szerzenie się infekcji na komórki sąsiednie. Uważa się, że apoptoza spełnia funkcję ochronną dla żywiciela wówczas, gdy pojawi się tuż po uaktywnieniu genów wirusa. Skutkiem tego jest degradacja białek i kwasów nukleinowych zarówno komórki jak i wirusa, a eliminacja zakażonej komórki zapobiega rozprzestrzenianiu się infekcji [21].

Podczas zakażenia wirusami mogą pojawiać się zmiany w nasileniu reakcji układu odpornościowego, gdyż zarówno żywiciel jak i patogen mogą indukować apoptozę limfocytów. Szereg patogennych wirusów DNA, szczególnie tych, które posiadają duży genom (wirus opryszczki, ospy), koduje białka modulujące przebieg apoptozy. Białka te zmieniają ekspresję genów apoptozy w komórce, przystosowując cykl komórkowy do własnego [21]. Inne, jak wirus odry i wirus HIV (ang.: human immunodeficiency virus) [21].

ciency virus), wzmagają apoptozę komórek dendrytycznych i limfocytów T opóźniając w ten sposób rozpoznanie immunologiczne i zapobiegając pojawieniu się efektorowych mechanizmów obronnych [22]. Jednym ze sposobów hamowania apoptozy przez wirusy jest blokowanie aktywnych kaspaz, gdyż genom wirusowy koduje białka należące do rodziny serynowych inhibitorów kaspaz. Inne wirusy, jak wirus Epstein-Barr, *Herpesvirus saimiri* wywołujący transformację nowotworową limfocytów T, czy wirus afrykańskiego pomoru świń, kodują białka homologiczne z komórkowym antyapoptotycznym białkiem Bcl-2. Do wirusów zmieniających cykl komórkowy należą również wirusy białaczek człowieka, HTLV i zwierząt, BLV. Białko Tax ludzkiego wirusa HTLV-1 indukuje proces apoptozy blokowany przez białko Bcl-2 oraz aktywuje transkrypcję genów komórki i wirusa odpowiedzialnych między innymi za nieograniczone przeżywanie i wzrost niedojrzałych limfocytów, czyli ich immortalizację. Jednak ostateczny wpływ białka kodowanego przez gen *tax* zależy od stanu funkcjonalnego komórki oraz od czasu jego działania [23]. Poziom tego białka może warunkować indukcję ekspresji genu aktywującego apoptozę (*c-myc*), lub genu supresorowego (*A20*). Można zatem przyjąć, że niektóre wirusy wypracowały mechanizm adaptacyjny, zmiennie indukując apoptozę komórek układu odpornościowego żywiciela.

Nasilenie apoptozy obserwuje się także w zakażeniach bakteryjnych. Ostatnio wiele uwagi poświęca się zakażeniu człowieka bakterią przewodu pokarmowego, *Helicobacter pylori*. Drobnoustroj ten wzbudza apoptozę komórek nabłonka błony śluzowej żołądka. W wyniku uszkodzenia błony śluzowej rozwija się choroba wrzodowa [24]. Wzrost procentu komórek podlegających apoptozie obserwuje się także podczas gruźlicy, czy bakteryjnego zapalenia płuc i opon mózgowych. *Mycobacterium tuberculosis* indukuje apoptozę monocytów, makrofagów i komórek nabłonka dróg oddechowych [25], natomiast *Streptococcus pneumoniae* apoptozę neuronów [26].

Modyfikowanie reakcji odpornościowych żywiciela

Podczas ewolucji pasożyty wypracowały różne sposoby wykorzystania apoptozy do zasiedlania lub opuszczenia tkanek żywiciela i manipulowania odpowiedzią układu odpornościowego. Pierwszy z nich umożliwia lub przyspiesza szerzenie się in-

wazji; z komórki zarażonej uwalniane są formy inwazyjne. Dzięki temu utrzymywany jest wymagany poziom wirulencji gwarantujący transmisję pasożyta z żywiciela nabywającego odporność do żywiciela wrażliwego. Drugi mechanizm warunkuje eliminację subpopulacji komórek immunokompetentnych, przyczyniając się do wyłączenia odpowiedzi przeciw pasożytniczej. Zablockowana jest produkcja przeciwciał swoiście rozpoznających antygeny pasożyta, a rozwój nadwrażliwości typu późnego jest opóźniony. Ponadto pasożyty wykorzystują białka żywiciela uwalniane z komórek podlegających apoptozie, jako własne czynniki wzrostowe. Wzbudzenie tolerancji układu odpornościowego na antygeny pasożytnicze zależy także od apoptozy we wczesnym etapie zarażenia. Mechanizm ten mógłby sprzyjać migracji larw i osiedlaniu się pasożytów. Zdolność do indukcji apoptozy warunkowałaby słabą lub brak odpowiedzi immunologicznej przeciw różnym formom rozwojowym pasożytów. Lokalna apoptoza wzbudzająca tolerancję obwodową, mogłaby stanowić jeden z najbezpieczniejszych mechanizmów sprzyjających przeżywaniu pasożytów w żywicielu [27].

Pasożytnicze wewnątrzkomórkowe *Protista*, podobnie jak wirusy czy bakterie, wykształciły dwa mechanizmy regulacji apoptozy. W okresie, gdy rozwijają się formy troficzne, śmierć zarażonych komórek jest hamowana. Po pojawieniu się form dyspersyjnych apoptoza jest wzbudzana, podobnie jak w komórkach zakażonych drobnoustrojami. Ekspresja czynników pro- i anty-apoptotycznych pochodzenia pasożytniczego zależy od fazy cyklu rozwojowego i lokalizacji pasożyta. W przypadku pasożytów pozakomórkowych oraz helmintów apoptoza jest indukowana głównie wśród różnych komórek układu odpornościowego, zarówno w fazie indukcji odpowiedzi immunologicznej jak i podczas reakcji obronnych skierowanych przeciw pasożytom.

Wiele gatunków pasożytów bardzo skutecznie hamuje odpowiedź immunologiczną żywiciela. Immunosupresja dotyczy zarówno odpowiedzi humoralnej jak i komórkowej. Niektóre pasożyty, jak np. nowonarodzone larwy *T. spiralis*, mogą bezpośrednio uszkadzać komórki układu odpornościowego uwalniając czynnik limfotoksyczny [28]. W większości przypadków jednak immunosupresja jest wynikiem hamowania aktywności komórek. Podczas odpowiedzi typu komórkowego następuje supresja antygenowo swoistych reakcji po wybiórczej eliminacji subpopulacji limfocytów. Zwykle zaburzona

jest równowaga między odpowiedzią zależną od limfocytów Th1 a Th2, co wpływa na zmianę składu i stężenia cytokin i sprzyja utrzymaniu się inwazji [29]. Indukowana jest także tolerancja po aktywacji limfocytów regulatorowych Th3, a kluczową rolę spełniają Fas i FasL [30]. W czasie apoptozy limfocyty T rozpadające się na ciała apoptotyczne produkują IL-10. Cytokina ta może wpłynąć na rozwój odpowiedzi immunologicznej już na etapie komórek prezentujących antygen, zmieniając kierunek różnicowania się limfocytów wśród limfocytów CD4⁺ [30]. Komórki prezentujące antygen, które pochłonęły ciała apoptotyczne z IL-10, podtrzymują różnicowanie się limfocytów T o fenotypie Th2, wydzielających IL-4 [31]. Niedawno wykazano, że komórki znajdujące się w apoptozie dodatkowo wydzielają transformujący czynnik wzrostu TGF- β , który hamuje odpowiedź układu odpornościowego [31]. Wszystkie te zmiany występujące w czasie inwazji umożliwiają pasożytom kontynuację cyklu życiowego i utrzymywanie się inwazji chronicznych.

Apoptoza pasożytniczych pierwotniaków

Modulowanie aktywności układu odpornościowego żywiciela przez pasożyty polega prawdopodobnie na podobieństwie sygnałów przekazywanych między komórkami tych organizmów. Wskazuje na to występowanie niektórych genów wyższych kręgowców jako pojedynczych sekwencji DNA u organizmów jednokomórkowych. Ten konserwatyzm pozwala pasożytom oddziaływać na fenotyp molekularny żywicieli [32]. Badania wykazały, że programowana śmierć u pierwotniaków jest w znacznym stopniu podobna do procesu opisanego u organizmów wielokomórkowych [33, 34]. Podobieństwo cech morfologicznych i biochemicznych sugeruje istnienie wspólnego mechanizmu apoptozy u tych odległych grup systematycznych. U pasożytniczych pierwotniaków, takich jak *Leishmania* sp. i *Plasmodium* sp., wykazano udział kaspaz (parakaspaz) w apoptozie [34]. Parakaspazy tych pasożytów posiadają podobną strukturę do kaspaz organizmów wielokomórkowych [33]. Podobnie jak w komórce żywiciela, u *Leishmania* zmiany morfologiczne jądra polegają na kondensacji i fragmentacji chromatyny, a zmiany potencjału błonowego w mitochondriach poprzedzające uwolnienie cytochromu c, potwierdzają istnienie wewnętrznej drogi aktywacji apoptozy [33]. Wysunięto zatem hipotezę, że genetycznie uwarunkowana śmierć komórki powinna

w pewnych przypadkach regulować liczebność populacji pasożytów, szczególnie tych, których struktura genetyczna jest klonalna. Nadmierna liczebność stadiów epimastigota *T. cruzi*, namnażających się w jelicie muchy tse-tse jest redukowana na drodze indukowanej apoptozy [35]. Proces ten ma wartość adaptacyjną dla układu wektor-pasożyt i prawdopodobnie może mieć znaczenie w utrzymaniu odpowiedniego poziomu wirulencji.

Apoptoza w inwazjach pasożytniczych pierwotniaków

Podobnie jak wirusy i bakterie, pierwotniaki i helminty mogą modulować apoptozę komórek żywicieli przyspieszając lub hamując jej przebieg. *Leishmania donovani* pasożytuje w makrofagach wątroby, śledziony, szpiku kostnego oraz w monocytach krwi. Uważa się, że wnika do makrofagów formy promastigota hamując nie tylko śmierć komórki, ale opóźniając transmisję sygnału z zarażonych makrofagów do komórek sąsiednich. Zmniejszają się tym samym szanse identyfikacji i fagocytozy pasożyta przez inne makrofagi [36]. Jednocześnie we wczesnej fazie zarażenia propagowana jest śmierć limfocytów CD4⁺. Z powodu zmniejszającej się frekwencji tych komórek produkcja cytokin podtrzymujących obronną odpowiedź Th1 zależną jest obniżana [37]. Podczas chronicznej inwazji innego gatunku, *L. chagasi*, powiększenie śledziony korelowane jest ze zwiększeniem populacji zarażonych makrofagów osiedlających się w tym narządzie, przy jednoczesnym dużym procencie limfocytów CD4⁺ ulegających apoptozie w wątrobie. Podczas leishmaniozy skórnej wywołanej przez amastigota *L. major* apoptoza wzbudzana jest ścieżką Fas/FasL [38]. Większa parazytemia u myszy z deficytem ligandu lub receptora Fas, wskazuje na funkcję obronną apoptozy w tym schorzeniu. Także w inwazji *Trypanosoma cruzi* obserwuje się zmniejszenie ekspresji receptorów Fas na limfocytach CD4⁺. Pozakomórkowa droga aktywacji apoptozy przez Fas zostaje wyłączona, a hamowaniu apoptozy dodatkowo sprzyja niekompletny skład kaskady kaspaz; kaspaza 8, jedna z inicjujących kaskadę, jest nieaktywna u pacjentów cierpiących z powodu choroby Chagasa [39-43]. Natomiast *in vitro* pasożyt indukuje apoptozę limfocytów CD4⁺ i CD8⁺ przez wzrost ekspresji cząsteczek Fas i FasL na powierzchni komórek [43]. Egzogenna IL-2 ochrania te subpopulacje limfocytów przed śmiercią. Oznacza to, że limfocyty T podczas inwazji zachowują

zdolność do biernej apoptozy, a cytokiny wyznaczają ich czas przeżycia.

Podobny mechanizm występuje podczas zarażenia *Toxoplasma gondii*. Trofozoity tego pierwotniaka wnikają do komórek układu mięśniowego, nerwowego oraz do makrofagów [44]. Pasożyt zmniejsza ekspresję receptorów Fas na limfocytach T w kępkach Payera. Proces jest regulowany przez cytokiny i zależy od stężenia IFN- γ [45]. Podobnie jak w zarażeniu *T. cruzi*, następuje zahamowanie aktywności jednej z kaspaz, kaspazy 3, a tym samym sygnał śmierci nie zostaje przekazany [39, 40]. Reakcje obronne w układzie odpornościowym żywiciela interferują z reakcjami indukowanymi przez pasożyty. Zakażone pierwotniakami makrofagi produkują białko szoku cieplnego hsp-65 (ang.: heat shock protein) hamujące apoptozę [46]. Wprawdzie zahamowana apoptoza makrofagów sprzyja przeżywaniu trofozoitów w komórce, ale osłabia wirulencję pierwotniaka.

Theileria sp., pierwotniak pasożytujący u przeżuwaczy, powoduje reakcje podobne do obserwowanych w nowotworzeniu komórek. Polegają one na wyłączeniu systemu kontroli cyklu komórkowego, w tym również regulacji apoptozy limfocytów i innych komórek układu odpornościowego. *Theileria parva* aktywuje transkrypcję jądrowego czynnika kappa B (NF- κ B, ang.: nuklear factor κ B), skutkiem czego jest zwiększona synteza białka Bcl-2, oraz indukuje ekspresję białek IAP (ang.: inhibitor of apoptosis) i FLIP (ang.: FLICE-like inhibitory protein) w limfocytach T. Białka te, utrzymując nieaktywną formę kaspazy 8, wykluczają aktywację kaskady kaspaz [39, 40].

Inwazji zarodźców malarii *Plasmodium* sp., w hepatocytach żywiciela towarzyszy nadekspresja syntetazy glutamino-cysteinowej będącej inhibitorem TNF- α i aktywatorem NF- κ B. Dodatkowo podczas inwazji tego pierwotniaka cytotoksyczne limfocyty T tracą zdolności wzbudzania apoptozy w zarażonej komórce [39]. Wysoka ekspresja receptorów Fas na jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej pojawia się u osób zarażonych zarodźcem sierpowatym, *P. falciparum*. Także w hodowlach *in vitro* komórki te są podatne na indukcję AICD. Podczas eksperymentalnego zarażenia myszy *P. yeolli* prawie całkowicie są eliminowane obwodowe limfocyty T CD4⁺ i CD8⁺ [47], co osłabia cytotoksyczny mechanizm niszczenia pasożyta w komórkach. Zarodźce malarii prawdopodobnie pobudzają do proliferacji limfocyty T, które amplifikują i modyfikują odpowiedź limfocytów B [47]; odpowiedź

układu odpornościowego jest wówczas nieskuteczna, gdyż skierowana przeciw determinantom antygenowym poprzedniego stadium rozwojowego.

Apoptoza towarzyszy także zarażeniu *Cryptosporidium parvum*; pasożyt ten lokalizuje się w komórkach nabłonka układu pokarmowego. Podczas kolonizacji jelita myszy, podwyższony poziom NF- κ B towarzyszy zahamowaniu apoptozy enterocytów [48], a niskie stężenie tego czynnika obserwowane jest, gdy apoptozie ulegają komórki zarówno wypełnione sporozoitami, jak i wolne od pasożytów. W postępującej inwazji nasilenie reakcji zapalnej stopniowo zmniejsza się, co wprawdzie obniża skuteczność zabijania komórek z pierwotniakami, ale także przyczynia się do zmniejszenia liczby usuwanych form dyspersyjnych. Mimo niskiego poziomu inwazja nadal utrzymuje się. Wydaje się, że w czasie kolonizacji enterocytów przez pasożyty hamowanie apoptozy zależy od czynników wzrostowych żywiciela; jest to przykład ewolucyjnego sukcesu adaptacyjnego pierwotniaków wewnątrzkomórkowych [46].

Apoptoza w inwazjach helmintów

Na odpowiedź układu odpornościowego przeciw helmintom składają się różne reakcje z zaangażowaniem mechanizmów wrodzonych i nabytych. Pobudzenie w układzie odpornościowym polega między innymi na klonalnej ekspansji różnych subpopulacji limfocytów, antygenowo swoistych dla fazy zarażenia. Coraz więcej jest doniesień wykazujących zmniejszenie aktywności układu odpornościowego żywiciela pod wpływem antygenów płazińców i nicieni [29, 32]. Obserwowana supresja odpowiedzi odpornościowej najprawdopodobniej wynika z zachwiania równowagi między limfocytami Th1 i Th2, chociaż mechanizm sprzyjający utrzymaniu się inwazji jest niewyjaśniony [49]. Zmiany poziomu odporności polegają na wzbudzaniu apoptozy różnych klonów limfocytów, których aktywacja i liczebność może być kontrolowana przez antygeny następných stadiów rozwojowych pasożyta. Uznaje się, że apoptoza odgrywa główną rolę w selekcji subpopulacji limfocytów, a sposoby regulowania tego procesu są różne [50]. Dlatego coraz więcej badań dotyczy funkcji apoptozy w regulacji przebiegu reakcji obronnej podczas zarażeń helmintami. Przykładem takiej inwazji jest *Heligmosomoides polygyrus*, nicienie myszy. Stadia dorosłe tego pasożyta obniżają reakcję zapalną w dwunastnicy żywiciela. Myszy w tym czasie nie są chronione przed ponow-

nią inwazją, a rozwój odpowiedzi obronnej żywiciela jest wstrzymywany przez formy dorosłe nicienia. W naszych badaniach obserwujemy zwiększenie procentu limfocytów ulegających apoptozie w czasie inwazji *H. polygyrus*. Eksperymenty przeprowadzone na szczepach myszy o różnej wrażliwości na zarażenie tym nicieniem, BALB/c i C57BL6, wykazały odmienny poziom apoptozy limfocytów w węzłach limfatycznych krezkowych, pachowych i pachwinowych. Może to prowadzić do osłabienia reakcji odpornościowych, gdyż zmniejsza się liczba aktywnych limfocytów, co w konsekwencji przyczynia się do powstania stanu immunosupresji podczas zarażenia [51].

Przywry *Schistosoma mansoni* zasiedlające żyłę krezkową dolną, uruchamiają mechanizmy pozwalające im wymknąć się spod kontroli układu odpornościowego żywiciela. Reakcja cytotoksyczna skierowana przeciw larwom – schistosomulom jest hamowana. Apoptozie ulegają swoiste wobec antygenów pasożyta subpopulacje limfocytów T, w tym CD4⁺ i CD8⁺, włączane do reakcji obronnych w wątrobie [52]. Zmniejszająca się liczebność limfocytów subpopulacji Th1 i Th2 skutkuje osłabieniem odpowiedzi immunologicznej. Schistosomule zawierają specyficzne białka SMAF (schistosoma mansoni apoptosis factor), które indukują apoptozę limfocytów i eozynofików. Także obecne w jajach miracydium wykazuje zdolność indukowania apoptozy komórek w hodowli [53].

Apoptoza odgrywa istotną rolę w inwazji innej przywry, *Paragonimus westermani*, u człowieka. Przywra ta osiedla się w mięszu płucnym, powodując paragonimozę. W badaniach wykazano wzrost apoptozy eozynofików u ludzi zarażonych tym pasożytem (54). Procesowi towarzyszy zmniejszenie produkcji IL-3, IL-5 i, prawdopodobnie, czynnika M-CSF (ang.: macrophage colony stimulating factor) lub IFN- γ [54]. Niedobór cytokin istotnych dla przeżycia i aktywności eozynofików skutkuje mniejszą liczebnością komórek i osłabieniem reakcji cytotoksycznych.

Przyczyną atrofii kosmków jelitowych szczurów zarażonych *Nippostrongylus brasiliensis* jest zwiększenie apoptozy i zmniejszenie adhezji enterocytów w 3. dniu po zarażeniu [55]. Jednocześnie IL-6 aktywuje proliferację limfocytów Th2 śledziony i powstrzymuje proces indukowanej apoptozy [56].

W zarażeniu myszy jajami *Echinococcus multilocularis* już w 12 tygodniu inwazji na drodze apoptozy eliminowane są aktywowane limfocyty T CD4⁺ i CD8⁺. Zjawisko to zachodzi prawdopodobnie w fa-

zie S cyklu komórkowego, a polega na zróżnicowaniu wrażliwości komórek dla sygnałów indukujących i hamujących apoptozę. Apoptotyczna śmierć komórek podczas zarażenia *E. multilocularis* może prawdopodobnie zachodzić nie tylko w określonych punktach cyklu komórkowego (ang. checkpoints), ale również w fazie replikacji DNA [57].

Apoptoza wzbudzana przez pasożyty w licznych punktach cyklu komórkowego, zapewne skutecznie moduluje reakcje układu odpornościowego żywiciela, co sprzyja utrzymaniu się inwazji helmintów (58). Badania ostatnich lat wyraźnie wskazują na szczególny udział antygenów ekskrecyjno-sekrecyjnych helmintów w indukcji apoptozy komórek śledziony. *Taenia crassiceps* indukują *in vivo* apoptozę limfocytów CD4⁺ i CD19⁺ [59], a *T. solium*, wydzielając proteazę cysteinową, wzbudza apoptozę i hamuje proliferację limfocytów CD4⁺ w śledzionie [60].

Białko indukujące apoptozę, AIP, wykryto u ryby oceanicznej *Scomber japonicus* zarażonej larwami nicienia *Anisakis simplex*. Przeprowadzone badania *in vivo* i *in vitro* wykazały, że jest to retikulo-plazmina produkowana w siateczce śródplazmatycznej fibroblastów ryb zarażonych tym gatunkiem nicienia. Deponowana w tkankach żywiciela w ścianie kapsuł otaczających larwy pasożyta, przypuszczalnie zapobiega dalszej migracji larw. Strukturalnie i funkcjonalnie białko AIP jest podobne do flawoproteiny i posiada aktywność oksydazy L-aminokwasów. Białko to posiada właściwości przeciwrakowe, indukując apoptozę w różnych komórkach nowotworowych ssaków. Można przypuszczać, iż AIP powstaje w wyniku interakcji czynników żywicielskich i pasożytniczych [61].

Podsumowanie

W inwazjach pasożytniczych nieuniknioną konsekwencją bezustannej stymulacji układu odpornościowego jest immunosupresja. Zmiany w liczebności i aktywności komórek układu odpornościowego mogą osłabić reakcje obronne i umożliwić utrzymanie się zarażenia przez długi czas. W tym aspekcie w badaniach immunologicznych nad układem pasożyt-żywiciel ważne byłoby rozpoznanie, w jakim stopniu apoptoza warunkuje żywicielską wrażliwość na zarażenie różnymi gatunkami pasożytów. Z drugiej strony, dostrzeżenie pozytywnej funkcji apoptozy, podobnej do opisanej w chorobach nowotworowych, rozszerzyłoby naszą wiedzę o reakcjach zachodzących w czasie inwazji pasożytniczych. In-

dukcja apoptozy komórek biorących udział w odpowiedzi immunologicznej może być korzystna dla wrażliwego żywiciela, gdyż chroniczna reakcja zapalna często doprowadza do reakcji autoimmunologicznych. Z punktu widzenia żywiciela, chroniczna inwazja pasożytnicza może być rozwiązaniem kompromisowym umożliwiającym mu przeżycie, chociaż w gorszej kondycji. Przedłużenie inwazji ma ważne znaczenie dla utrwalania związku między pasożytem a żywicielem, przyczyniając się do generowania coraz słabszych reakcji stanu zapalnego, a także wzrostu tolerancji żywiciela na pasożyta i *vice versa*. Reakcje odpornościowe cechuje odmienny poziom aktywacji i zróżnicowany efekt obronny. Przytoczone powyżej przykłady świadczą o tym, że w inwazjach pasożytniczych apoptoza pojawia się pod wpływem wielu czynników żywicielskich i pasożytniczych. Pełne zrozumienie tych reakcji i poznanie funkcji cząsteczek włączających się w regulację apoptozy pozwoli ustalić, w jakim stopniu jest ona mechanizmem kontrolującym odpowiedź układu odpornościowego żywiciela, a w jakim wykorzystywana jest przez pasożyty.

Literatura

- [1] Artis D., Grencis R.K. 2001. T helper cell cytokine responses during intestinal nematode infection: induction, regulation and effector function. In: *Parasitic Nematodes: Molecular Biology, Biochemistry and Immunology* (Eds. M.W. Kennedy, W. Harnett). CABI Publishing, New York: 331-371.
- [2] Krammer P.H., Behrmann I., Daniel P., Dhein J., Debatin K.M. 1994. Regulation of apoptosis in the immune system. *Current Opinion of Immunology* 2: 279-89.
- [3] Vaux D.L., Korsmeyer S.J. 1999. Cell death in development. *Cell* 98: 245-254.
- [4] Osborne B.A. 1996. Apoptosis and the maintenance of homeostasis in the immune system. *Current Opinion of Immunology* 2: 245-54.
- [5] Lenardo M., Ka-Ming Chan F., Hornung F., McFarland H., Siegel R., Wang J., Zheng L. 1999. Mature T lymphocyte apoptosis. Immune regulation in a dynamic and unpredictable antigenic environment. *Annual Review of Immunology* 17: 221-253.
- [6] O'Flaherty E., Wong W.-K., Pettit S.J., Seymour K., Ali S. 2000. Regulation of T-cell apoptosis: a mixed lymphocyte reaction model. *Immunology* 3: 289-299.
- [7] Egucki Y., Shimizu S., Tsujimoto Y. 1997. Intracellular ATP levels determine cells death fate by apoptosis or necrosis. *Cancer Research* 57: 1835-1840.
- [8] Samuilov V.D., Oleskin A.V., Lagunova E.M. 2000. Programmed cell death. *Biochemistry* 8: 873-887.
- [9] Van Parijs L., Abbas A.K. 1996. Role of Fas-mediated cell death in the regulation of immune responses. *Current Opinion in Immunology* 8: 355-361.
- [10] Baker S.J., Reddy E.P. 1998. Modulation of life and death by the TNF receptor superfamily. *Oncogene* 17: 3261-3270.
- [11] Hengartner M.O. 2000. The biochemistry of apoptosis. *Nature* 407: 770-776.
- [12] Cain K., Bratton S.B., Cohen G.M. 2002. The Apaf-1 apoptosome: a large caspase-activating complex. *Biochimie* 84: 203-214.
- [13] Adrain C., Creagh E.M., Martin S.J. 2001. Apoptosis-associated release of Smac/DIABLO from mitochondria requires active caspases and is blocked by Bcl-2. *The EMBO Journal* 23: 6627-6636.
- [14] Darzynkiewicz Z., Bedner E., Smolewski P. 2001. Flow cytometry in analysis of cell cycle and apoptosis. *Seminars Hematology* 38: 179-193.
- [15] Fadok V.A., Voelker D.R., Campbell P.A., Cohen J.J., Brotton D.L., Henson P.M. 1992. Exposure of phosphatidylserine on the surface of apoptotic lymphocytes triggers specific recognition and removal by macrophages. *Journal of Immunology* 148: 2207-2216.
- [16] Fadok V.A., Bratton D.L., Konowal A., Freed P.W., Westcott J.Y., Henson P.M. 1998. Macrophages that have ingested apoptotic cells in vitro inhibit proinflammatory cytokine production through autocrine/paracrine mechanisms involving TGF- β , PGE-2 and PAF. *Journal of Clinical Investigation* 101: 890-898.
- [17] Savill J. 1997. Apoptosis in resolution of inflammation. *Journal of Leucocyte Biology* 61: 375-80.
- [18] Mehmet H. 2000. Caspases find a new place to ride. *Nature* 403: 29-30.
- [19] Chinnaiyall A.M. 1999. The apoptosome: heart and soul of the cell death machine. *Neoplasia* 1: 5-15.
- [20] Nakagawa T., Zhu H., Morishima N., Li E., Xu J., Yankner B.A., Yuan J. 2000. Caspase-12 mediates endoplasmic-reticulum-specific apoptosis and cytotoxicity by amyloid- β . *Nature* 403: 98-103.
- [21] Cuff S., Rubby J. 1996. Evasion of apoptosis by DNA viruses. *Immunology and Cell Biology* 74: 527-537.
- [22] Fugier-Vivier J., Server-Delprat C., Rivallier P., Rissoan M.C., Lill Y.J., Roubardin-Combe C. 1997. Measles virus suppresses cell-mediated immunity by interfering with the survival and functions of dendritic and T cells. *Journal of Experimental Medicine* 186: 813-823.
- [23] Chlichlia K., Moldenhauer G., Daniel P.T., Busslinger M., Gazzolo L., Schirmacher V., Khazaie K. 1995. Immediate effects of reversible HTLV-1 tax function: T-cell activation and apoptosis. *Oncogene* 2: 269-77.
- [24] Ramachandram A., Madesh M., Balasubramanian K.A. 2000. Apoptosis in the intestinal epithelium: It is relevance in normal and pathophysiological condi-

- tions. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 15: 109-120.
- [25] Placido R., Mancino G., Amendola A., Mariani F., Vendetti S., Piacentini M., Sanduzzi A., Bocchino M.L., Zembala M., Colizzi V. 1999. Apoptosis of human monocytes/macrophages in *Mycobacterium tuberculosis* infection. *The Journal of Pathology* 181: 31-38.
- [26] Fettucciari K., Rosati E., Scaringi L., Cornacchione P., Migliorati G., Sabatini R., Fettriconi I., Rossi R., Marconi P. 2000. Group B *Streptococcus* induces apoptosis in macrophages. *The Journal of Immunology* 165: 3923-3933.
- [27] Ferguson T.A., Stuart P.M., Herndon J.M., Griffith T.S. 2003. Apoptosis, tolerance, and regulatory T cells – old wine, new wineskins. *Immunological Review* 193: 111-123.
- [28] Bozic F., Marinculic A., Durakovic E. 2000. Analysis of intestinal intraepithelial lymphocyte populations in experimental *Trichinella spiralis* infection of mice. *Folia Parasitologica (Praha)* 47: 55-9.
- [29] Garside P., Kennedy M.W., Wakeli D., Lawrence C.E. 2000. Immunopathology of intestinal helminth infection. *Parasite Immunology* 22: 605-612.
- [30] Bjorck P., Banchereau J., Flores-Romo L. 1997. CD40 ligation counteracts Fas-induced apoptosis of human dendritic cells. *International Immunology* 9: 365-372.
- [31] Chen W., Frank M.E., Jin W., Wahl S.M. 2001. TGF-beta released by apoptotic T cells contributes to an immunosuppressive milieu. *Immunity* 14: 715-725.
- [32] James E.R., Green D.R. 2004. Manipulation of apoptosis in the host-parasite interaction. *Trends in Parasitology* 6: 280-287.
- [33] Al-Olayan E.M., Williams G.T., Hurd H. 2002. Apoptosis in the malaria protozoan, *Plasmodium berghei*: a possible mechanism for limiting intensity of infection in the mosquito. *International Journal for Parasitology* 32: 1133-1143.
- [34] Barcinski M.A., Dos Reis G.A. 1999. Apoptosis in parasites and parasite-induced apoptosis in the host immune system: a new approach to parasitic diseases. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 32: 395-401.
- [35] Tyler K.M. 2003. Maintenance of parasitaemia – is it to die for? *Kinetoplastid Biology and Disease* 24: 1-2.
- [36] Das G., Vohra H., Rao K., Saha B., Mishra G.C., 1999. *Leishmania donovani* infection of a susceptible host results in CD4⁺ T cell apoptosis and decrease Th1 cytokine production. *Scandinavian Journal of Immunology* 49: 307-310.
- [37] Huang F.P., Xu D., Esfandiari E.O., Sands W., Wei X.Q., Liew F.Y. 1998. Mice defective in Fas are highly susceptible to *Leishmania major* infection despite elevated IL-12 synthesis, strong Th responses, and enhanced nitric oxide production. *Journal of Immunology* 160: 4143-4147.
- [38] Luder C., Gross U., Lopes M.F. 2001. Intracellular protozoan parasites and apoptosis: diverse strategies to modulate parasite-host interactions. *Trends in Parasitology* 10: 480-486.
- [39] Heussler V.T., Kuenzi P., Rottenberg S. 2001. Inhibition of apoptosis by intracellular protozoa parasites. *International Journal for Parasitology* 31: 1166-1176.
- [40] Debrabant A., Lee N., Bertholet S., Duncan R., Nakhasi H.L. 2003. Programmed cell death in trypanosomatids and other unicellular organisms. *International Journal of Parasitology* 33: 257-267.
- [41] Welburn S.C., Barcinski M.A., Williams G.T. 1997. Programmed cell death in Trypanosomatids. *Parasitology Today* 13: 22-26.
- [42] Ouaisi A. 2003. Apoptosis-like death in trypanosomatids: search for putative pathways and genes involved. *Kinetoplastid Biology and Disease* 25:2-5.
- [43] Lopes M.F., Veiga V.F., Santos A.R., Fonseca M.E.F., Dos Reis G.A. 1995. Activation – induced CD4⁺ T cell death by apoptosis in experimental Chagas' disease. *Journal of Immunology* 29: 81-89.
- [44] Liesenfeld O., Kosek J.C., Suzuki Y. 1997. Gamma interferon induces Fas- dependent apoptosis of Payer's patch T cells in mice following per oral infection with *Toxoplasma gondii*. *Infection and Immunity* 65: 4682-4689.
- [45] Nash P.B., Purner M.B., Leon R.P., Clarke P., Duke R.C., Curiel T.J. 1998. *Toxoplasma gondii*- infected cells are resistant to multiple inducers of apoptosis. *Journal of Immunology* 160: 1824-1830.
- [46] Hisaeda H., Sakai T., Ishicawa H., Maekawa Y., Yasutomo K., Good R.A., Himeno K. 1997. Heat shock protein 65 induced by gamma-delta T cells prevent apoptosis of macrophages and contributes to host defence in mice infected with *Toxoplasma gondii*. *Journal of Immunology* 159: 2375-2381.
- [47] Kemp K., Akanmori B.D., Adabayeri V., Goka B.Q., Kurtzhals J.A.L., Behr C., Hviid L. 2002. Cytokine production and apoptosis among T cells from patients under treatment for *Plasmodium falciparum* malaria. *Clinical & Experimental Immunology* 1: 151-157.
- [48] Deng M., Rutherford M.S., Abrahames M.S. 2004. Host intestinal epithelial response to *Cryptosporidium parvum* advanced. *Drug Delivery Reviews* 56: 869-884.
- [49] Vaux D.L., Strasser A. 1996. The molecular biology of apoptosis. *Proceedings of National Academy of Science USA* 6: 2239-44.
- [50] Hasnain S.E., Begum R., Ramaiah K.V., Sahdev S., Shajil E.M., Taneja T.K., Mohan M., Athar M., Sah N.K., Krishnaveni M. 2003. Host-pathogen interactions during apoptosis. *Journal of Bioscience* 3: 349-358.
- [51] Donskow K., Rzepecka J., Doligalska M. 2004. Apoptoza w regulacji odpowiedzi immunologicznej

- u myszy zarażonych *Heligmosomoides polygyrus*. *Wiadomości Parazytologiczne* 3: 519-522.
- [52] Estaquier J., Marquerite M., Sahuc F., Bessis N., Aussiault C., Ameisen J.C. 1997. Interleukin 10 mediated T cell apoptosis during the T helper type 2 cytokine responses in murine *Schistosoma mansoni* parasite infection. *European Cytokine Network* 8: 153-160.
- [53] Rumbley C.A., Philips M. 1999. The schistosome granuloma: an immunoregulatory organelle. *Microbes and Infection* 7: 499-504.
- [54] Shin M.H. 2000. Excretory-secretory product of newly excysted metacercariae of *Paragonimus westermani* directly induces eosinophil apoptosis. *The Korean Journal of Parasitology* 1: 17-23.
- [55] Hyoh Y., Nishida M., Uchikawa R., Tegoshi T., Yamada M., Matsuda S., Arizono N. 1998. Enhanced apoptosis in rat intestinal villi after infection with the nematode *Nippostrongylus brasiliensis*. *Parasitology International* 47 (Suppl.): 283-389.
- [56] Liwski R.S., Lee T.D.G. 1999. Nematode infection enhances survival of activated T cells by modulating accessory cell function. *The Journal of Immunology* 163: 5005-5012.
- [57] Macintyre A.R., Dixon J.B., Green J.R. 2000. Growth kinetics of leukocyte cell lines cultured with hydatid fluid of *Echinococcus granulosus* equinus. *Parasite Immunology* 22: 651-657.
- [58] Else K.J. 2005. Have gastrointestinal nematodes outwitted the immune system? *Parasite Immunology* 27: 407-415.
- [59] Lopez-Briones S., Sciutto E., Ventura J.L., Zentella A., Fragoso G. 2003. CD4⁺ and CD19⁺ splenocytes undergo apoptosis during an experimental murine infection with *Taenia crassiceps*. *Parasitology Research* 90: 157-163.
- [60] Tato P., Fernandez A.M., Solano S., Borgonio V., Garrido E., Sepulveda J., Molinari J.L. 2004. A cysteine protease from *Taenia solium* metacestodes induce apoptosis in human CD4⁺ T-cells. *Parasitology Research* 92: 197-204.
- [61] Jung S.K., Mai A., Iwamoto M., Arizono N., Fujimoto D., Sakamaki K., Yonehara S. 2000. Purification and cloning of an apoptosis-inducing protein derived from fish infected with *Anisakis simplex*, a causative nematode of human Anisakiasis. *The Journal of Immunology* 165: 1491-1497.

Zaakceptowano 30 września 2005